

Seleksi Marka SCAR untuk Identifikasi Dini Jenis Kelamin Tanaman Pepaya (*The Selection of SCAR Markers for Early Sex Identification of Papaya*)

Noflindawati^{1,2)}, Aswaldi Anwar¹⁾, Agus Sutanto²⁾ dan Yusniwati¹⁾

¹⁾Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang, Sumatra Barat, Indonesia 25163

²⁾Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika, Jln. Raya Solok-Aripan Km 8, Solok, Sumatra Barat, Indonesia 27301
E-mail: noflindawatiacik@gmail.com.

Diterima: 2 Februari 2020; direvisi: 22 April 2020; disetujui: 29 April 2020

ABSTRAK. Identifikasi dini terhadap jenis kelamin tanaman pepaya merupakan hal penting yang dapat membantu petani dalam budidaya tanaman pepaya. Identifikasi kelamin pepaya berdasarkan marka morfologi dan fisiologi telah dilakukan, namun beberapa hasilnya masih bias karena faktor lingkungan. Identifikasi kelamin tanaman pepaya menggunakan marka molekuler bisa lebih cepat dan akurat. Penelitian tersebut telah banyak dilakukan, salah satu di antaranya adalah marka berbasis *sequence characterized amplified region* (SCAR) dan beberapa primer SCAR telah dihasilkan untuk identifikasi kelamin pepaya. Penelitian bertujuan untuk menyeleksi primer SCAR yang efektif dalam mengidentifikasi seks tanaman pepaya. Penelitian dilakukan pada bulan November 2018 sampai Juni 2019 di Laboratorium Molekuler dan Uji Mutu Kebun Percobaan Sumani Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika di Solok. Primer SCAR yang diseleksi adalah W11, T12, PKBT5, Napf2, dan SDp. Tanaman referensi sebagai sampel umur 11–12 bulan adalah tanaman betina, jantan, dan hermaphrodit masing-masing lima tanaman dari pepaya lokal dan Merah Delima. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lima primer SCAR yang diuji hanya dapat membedakan tanaman betina dengan tanaman jantan dan hermaphrodit tetapi belum dapat membedakan antara tanaman jantan dengan hermaphrodit. Konsistensi pola amplifikasi dihasilkan dari primer SCAR W11, Napf2, dan T12 dengan posisi 800 bp. Primer SCAR W11, Napf2, dan T12 selanjutnya dapat digunakan sebagai marka untuk identifikasi kelamin tanaman betina dengan tanaman jantan dan hermaphrodit.

Katakunci: SCAR; Identifikasi; Pepaya; Jantan; Hermaphrodit

ABSTRACT. The determination of sex expression of papaya plants is important to farmers in its cultivation. The identification of papaya plant sex based on morphological and physiological characters have been previously carried out, however, the results were still biased due to environmental factors. Many studies have been carried out to identify this plant sex, such as the use of molecular and SCAR markers, based on sequence characterization on amplified regions. This research aims to select the SCAR primers that are effective in identifying papaya plant sex. The study was conducted from November 2018 to June 2019, at Laboratory of Molecular and Quality Testing of the Indonesian Tropical Fruit Research Institute in Solok. The selected SCAR primers were W11, T12, PKBT5, Napf2, and SDp, using a total of five female, male, and hermaphrodite plants as reference aged 11–12 month from local papaya and cv. *Merah Delima*. The five SCAR primers tested were only able to differentiate females from male and hermaphrodite plants. The consistency of the amplification pattern was obtained from the SCAR W11, T12, and Napf2 primers at 800 bp. In conclusion, SCAR W11, Napf2, and T12 primers are used as markers to distinguish female plants from male and hermaphrodite.

Keywords: SCAR; Identification; Papaya; Male; Hermaphrodite

Pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan tanaman polygamous dengan tiga tipe ekspresi kelamin, yaitu betina atau *pistillate*, jantan atau *staminate*, dan hermaphrodit (Aryal & Ming 2014; Saran, Solanki & Choudhary 2016; Chavez-Pesqueira & Farfan 2017). Sebelumnya telah dilaporkan oleh Storey (1976) dalam (Ming, Bendahmane & Renner 2011); dan (Aryal & Ming 2014) bahwa ekspresi seks (jenis kelamin) pepaya dipengaruhi oleh tiga alel. Bunga betina menghasilkan buah yang berbentuk seperti belimbing dan/atau membulat dan berdaging tipis, bunga jantan tidak menghasilkan buah, sedangkan bunga hermaphrodit (sempurna) menghasilkan buah yang lonjong atau memanjang (Aryal & Ming 2014; Saran, Solanki & Choudhary 2016). Buah dari bunga hermaphrodit pada

umumnya diharapkan oleh petani karena merupakan preferensi dari konsumen. Kelamin tanaman pepaya baru terlihat 4–6 bulan setelah tanaman berbunga (Foram *et al.* 2019) dan untuk mengetahui kelamin tanaman pepaya sejak dini sangat sulit dilakukan oleh petani.

Kelamin pada tanaman pepaya sangat unik dan kompleks karena dikendalikan oleh gen yang kompleks pada bagian kecil dalam kromosom kelamin. Hofmeyr (1939; Storey 1953) dalam (Mohan 2014) dan (Ming & Moore 2014); (Foram *et al.* 2019), secara terpisah mengungkapkan bahwa penentuan jenis kelamin pada pepaya dikendalikan oleh gen dengan tiga alel, yang disimbolkan sebagai M1, M2, dan m oleh Hofmeyr dan M, Mh, dan m oleh Storey. Penanda DNA yang bertautan dengan kelamin pepaya

dikembangkan oleh beberapa kelompok penelitian dan dihasilkan peta tautan genom pepaya. Peta genetik beresolusi tinggi, peta halus, peta fisik, dan sekuen DNA dari lokus penentu kelamin mengarah pada kesimpulan bahwa sepasang kromosom seks primitif mengendalikan munculnya kelamin pada pepaya (Liao *et al.* 2017; Liao, Yu & Ming 2018). Selain itu, daerah-daerah dalam kromosom Y dan Yh (masing-masing ditetapkan sebagai daerah MSY dan HSY) sulit untuk dipelajari karena posisinya yang rumit sehingga membuat penentuan jantan dan hermaphrodit merupakan proses yang sulit dan rumit.

Penerapan teknik molekuler dan penelitian bioteknologi terkait penanda DNA penentuan kelamin pepaya telah dikembangkan oleh beberapa kelompok penelitian. Penggunaan marka *sequence characterized amplified region* (SCAR) terkait determinasi kelamin tanaman *dioecious Seabuckthorn* (*Hippophae rhamnoides* L., *Elaeagnaceae*) diteliti juga oleh Korekar *et al.* (2012). Menurut Bhagyawant (2016), penanda SCAR bersifat kodominan, reproduksibilitas tinggi, dapat digunakan untuk pemetaan genetik, berbasis PCR, dan informasi yang didapat spesifik.

Penanda SCAR untuk determinasi kelamin pada tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) diperoleh dari amplifikasi fragmen spesifik hasil RAPD (Parasnis *et al.* 2000 ; Lemos *et al.* 2002; Urasaki *et al.* 2002; Chaves-bedoya 2007; Nirosini *et al.* 2008; Oliveira *et al.* (2007) dalam (Saran, Solanki & Choudhary 2016); Urasaki *et al.* 2012; Tomar *et al.* 2015; Liao, Yu & Ming 2017). Baru-baru ini studi transkriptomik telah dilakukan untuk mengidentifikasi jenis kelamin tanaman pepaya (Urasaki *et al.* 2012). Tomar *et al.* (2015), melaporkan hasil penelitian pengembangan empat marka ISSR berbasis SCAR dan satu marka terpilih CPS-2 untuk pendeteksi kelamin tanaman pepaya saat pembibitan dengan besaran produk 782 bp pada sampel jantan dan tidak teramplifikasi pada sampel betina. SCAR ini digunakan juga untuk menyusun peta fisik (*mapping*) kromosom HSY (Na *et al.* 2012; Wang *et al.* 2012). Namun, belum ada penelitian yang memvalidasi penggunaan penanda SCAR ini pada populasi besar kultivar *dioecious* dan *gynodioecious* dan populasi dengan persilangan intergenerik.

Di Indonesia, penelitian penentuan kelamin pepaya telah dilakukan oleh Sobir, Sujiprihati & Pandia (2008) di mana hasilnya mendapatkan penanda DNA sederhana untuk mengidentifikasi ekspresi kelamin di pepaya. Dalam penelitian tersebut digunakan lima penanda SCAR, yaitu W12, T12, Napf2, PKBT-4, dan PKBT-5 yang berukuran 20–21 basa. Sepasang primer PKBT-5 telah berhasil membedakan tanaman

jantan dan hermaphrodit dari tanaman betina. Selain itu juga dihasilkan primer PKBT-4, namun primer ini belum akurat membedakan pita DNA yang muncul. Penelitian untuk mendapatkan penanda molekuler terkait dengan ekspresi kelamin tanaman pepaya terus dilakukan. Penelitian menggunakan teknik penanda SCAR telah dilakukan oleh Chaturvedi *et al.* (2014) untuk memvalidasi marka W11 dengan menggunakan F1 hasil silangan *C. papaya* dengan *Vasconcella cauliflora*. Hasilnya adalah teramplifikasinya pita DNA pada kisaran 800 bp pada tanaman jantan dan hermaphrodit tetapi tidak pada tanaman betina.

Validasi terhadap primer dilakukan oleh Ejaz *et al.* (2015) untuk determinasi kelamin tanaman pepaya menggunakan enam penanda DNA, yaitu W-11, T12, SDP, Napf2-76, PKBT4, dan PKBT5. Marker SCAR SDP, PKBT5, dan Napf2-76 menunjukkan adanya alel terkait kelamin masing-masing sebesar 98%, 96%, dan 93% dari tanaman jantan, sedangkan untuk tanaman betina penanda tersebut tidak menunjukkan adanya alel terkait kelamin. Selanjutnya Leela & Chinnasamy (2018) melaporkan hasil validasi pada tujuh primer SCAR terkait kelamin pepaya, di mana primer Napf2 dan T1 gagal menghasilkan produk PCR terkait, PKBT 4, PKBT 5, W11, SCARpm, SDP, dan T12 mampu mendeteksi tanaman jantan atau biseksual (hermaphrodit) dengan kisaran reliabilitas 82,4% hingga 92,9%.

Penelitian yang hampir sama juga dilakukan Kanchana *et al.* (2018) mencoba 10 jenis primer SCAR dan sepasang primer RAPD menggunakan sampel pepaya Australia, dari 10 primer yang diuji hanya tiga pasang primer yang menghasilkan ampikon yang berbeda terhadap sampel tanaman betina, jantan, dan hermaphrodit. Ampikon yang dihasilkan dominan ditunjukkan pada sampel jantan dan hermaphrodit tidak pada sampel betina.

Penelitian ini bertujuan untuk menyeleksi marka SCAR yang dapat membedakan tanaman jantan, betina, dan hermaphrodit pada tanaman pepaya, dan selanjutnya dapat dilacak SNP DNA genom untuk perancangan marka SNAP. Hipotesis penelitian ini adalah diduga adanya perbedaan pola amplifikasi kelima primer SCAR yang diuji, terkait ekspresi kelamin tanaman pepaya.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan dari bulan Januari sampai November 2019 di Laboratorium Molekuler dan Uji

Tabel 1. Daftar primer yang digunakan dalam determinasi kelamin pepaya (*List of sex linked primers used in the sex determination of papaya*)

Nama primer (<i>Primer name</i>)	Primer sekuen (<i>Sequence primer</i>)	Ukuran produk PCR (<i>PCR product size</i>), bp	Suhu <i>annealing</i> (<i>Annealing temperature</i>), °C
W11	F (CTGATGCGTGTGTGGCTCTA) R (TACCTTCGCTCACCTCTGCA)	800	50
T12	F(GGGTGTGTAGGCACTCTCCTT) R(GGGTGTGTAGCATGCATGATA)	800	58
PKBT-5	F (AGCCAGGGTCGTGGTAAGAG) R(TCCCATGGCGTGTGCGCTG)	350	60
SDP	F(GCAGGATTTAGATTAGATGT) R(GGATAGCTTGCCCAG GTCAC)	225	58
Napf2	F(GAGGATCCCTATTAGTGTAAG) R(GAGGATCCCTTTGCACTCTG)	831	59

Mutu Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika, Solok, Sumatra Barat.

Bahan Penelitian

Isolasi DNA genom untuk pengujian primer SCAR menggunakan sampel tanaman pepaya yang sudah berbunga dan berbuah umur 11–12 bulan berbunga betina, berbunga jantan atau bunga hermaprodit dari jenis pepaya lokal dan Merah Delima.

Ekstraksi dan Isolasi DNA

DNA diekstraksi dari daun pepaya menggunakan metode CTAB yang dimodifikasi (Stefanova *et al.* 2013). Sebanyak 100 mg daun pepaya digerus dengan 1,5 ml *buffer* ekstraksi, 1% β -mercaptoethanol, dan 10 mg PVP-10 untuk membentuk pasta. Sampel kemudian dipindahkan ke dalam 2 ml tabung *centrifuge* dan diinkubasi pada suhu 65°C selama 60 menit. Protein akan terdegradasi tiga kali dengan 500 μ l kloroform: isoamyl-alkohol (24: 1), dan kemudian disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 10 menit. Presipitasi DNA dilakukan dengan penambahan 500 μ l iso-propanol dingin, sedangkan degradasi RNA menggunakan 2 mg/ml RNase, kemudian disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 10 menit. Pelet DNA yang terbentuk dikeringanginkan, kemudian dibilas dengan etanol 70%, dan dilarutkan dalam 50 ml larutan *buffer* TE.

PCR - SCAR

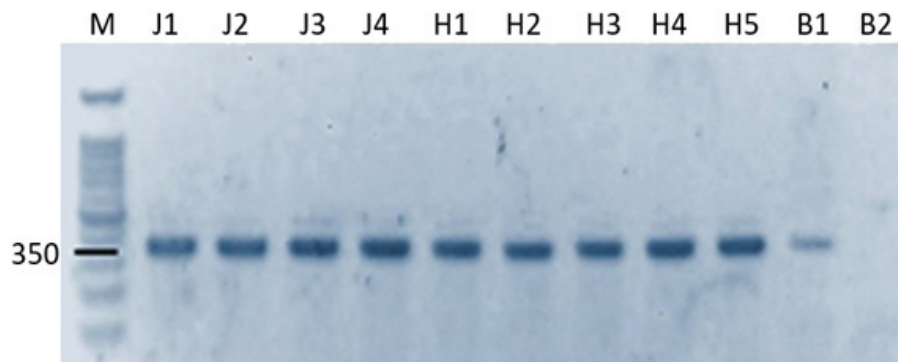
Sampel DNA selanjutnya di-PCR dengan komposisi 1 μ g dari DNA genom, 1 μ l masing-masing primer, 6,25 μ l 2x Taq DNA (KAPPA), dan 4,25 μ l ddH₂O. Profil PCR yang digunakan adalah denaturasi awal suhu 94°C selama 2 menit, kemudian 35 siklus denaturasi 95°C selama 15 menit, *annealing* 50–60°C (Tabel 1) selama 15 detik dan ekstensi 72°C selama 1 menit, dan diikuti dengan satu siklus ekstensi akhir pada 72°C selama 5 menit. Produk PCR dipisahkan dengan elektroforesis

pada 1,2% gel agarosa dan divisualisasikan dengan pewarnaan etidium bromida.

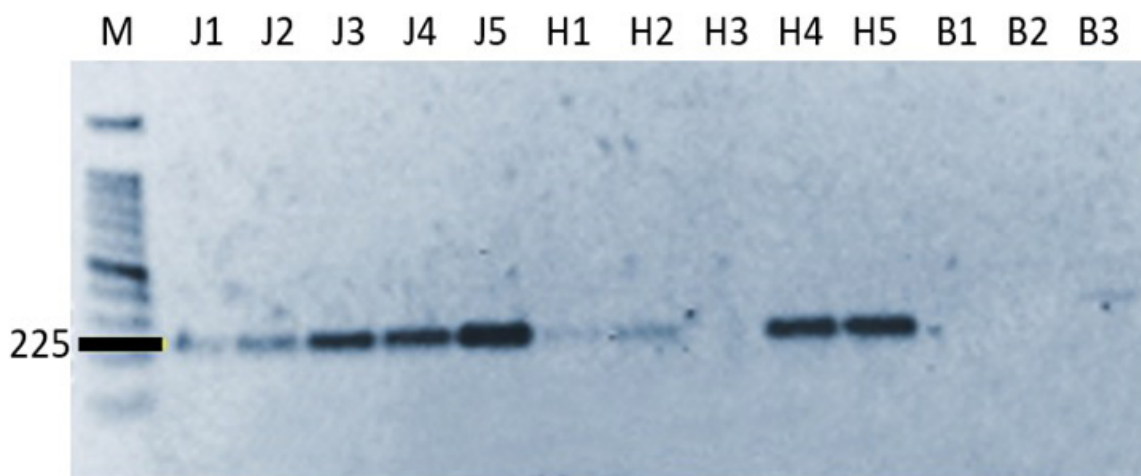
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian terhadap beberapa primer SCAR terkait kelamin tanaman pepaya dilakukan terlebih dahulu dengan mengoptimasi suhu *annealing* untuk mendapatkan hasil yang sesuai dengan referensi. Primer SCAR PKBT- 5 yang diuji menghasilkan produk PCR sebesar 350 bp yang secara visual berupa satu pita DNA pada posisi 350 bp (Gambar 1). Pola pita DNA muncul pada sampel tanaman jantan, hermaprodit, dan tanaman betina B1, sedangkan pada tanaman betina B2 tidak muncul pita DNA. Hal ini sedikit bertentangan dengan hasil penelitian Sobir, Sujiprihati & Pandia (2008) bahwa primer PKBT-5 telah berhasil membedakan tanaman jantan dan hermaprodit dari tanaman betina yang diekspresikan dengan munculnya pita DNA pada sampel bunga jantan dan bunga hermaprodit saja, tetapi tidak pada sampel bunga betina. Tetapi pada penelitian ini primer PKBT-5 masih menghasilkan produk PCR pada sampel tanaman betina B1 (Gambar 1).

Primer SCAR SDP yang diuji menghasilkan produk PCR dengan ukuran produk 225 bp, pada suhu *annealing* 55°C seperti terlihat pada Gambar 2. Sampel DNA tanaman jantan menghasilkan pola pita yang sangat jelas pada posisi antara 200–300 bp. Pola pita yang sama muncul pada sampel DNA yang berasal dari tanaman hermaprodit H4 dan H5, sedangkan pada H1 dan H2 pola pita DNA yang dihasilkan tipis dan bahkan sampel DNA tanaman hermaprodit H3 tidak menghasilkan produk PCR. Primer SCAR SDP tidak menghasilkan produk PCR pada sampel asal tanaman betina B1–B3. Menurut Wang *et al.* (2012), pita DNA



Gambar 1. Hasil elektroforesis identifikasi kelamin pepaya menggunakan primer SCAR PKBT 5. J1–J4 = tanaman jantan, H1–H5 = tanaman hermaphrodit, B1–B2= tanaman betina, dan M = DNA ladder 100 bp (*Electrophoresis result of papaya genital identification using a SCAR PKBT 5. J1–J4 = male, H1–H5 = hermaphrodite, B1–B2 = female, and M = DNA ladder 100 bp*)



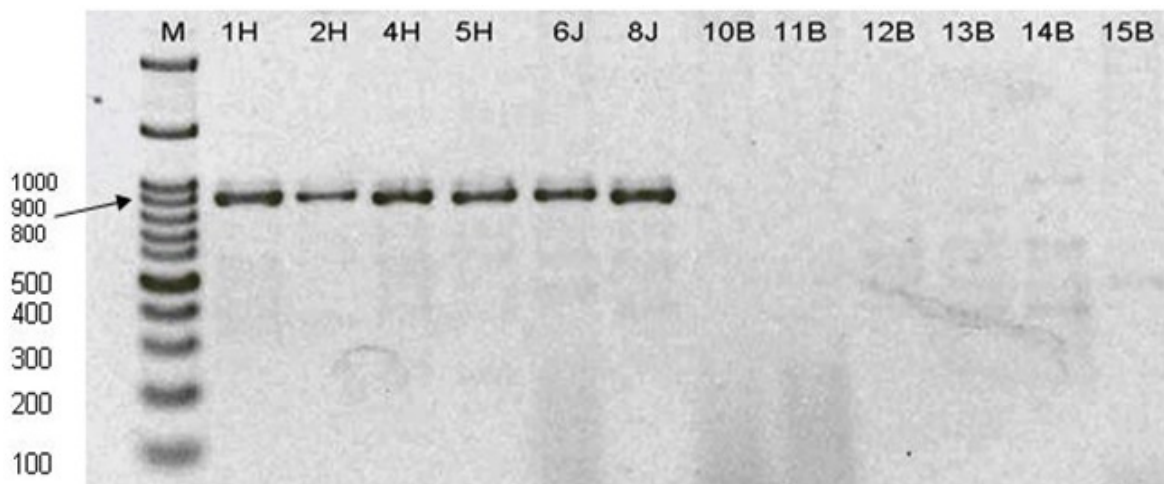
Gambar 2. Hasil elektroforesis identifikasi kelamin pepaya menggunakan primer SCAR SDP. J1–J5 = tanaman jantan, H1–H5 = tanaman hermaphrodit, B1–B3= tanaman betina, dan M = DNA ladder 100 bp (*Electrophoresis result of papaya genital identification using a SCAR SDP. J1–J5 = male, H1–H5 = hermaphrodite, B1–B3 = female, and M = DNA ladder 100 bp*)

hanya akan teramplifikasi bila urutan DNA pada urutan primer cocok dengan urutan basa pada bagian inter mikrosatelit genom tanaman sampel.

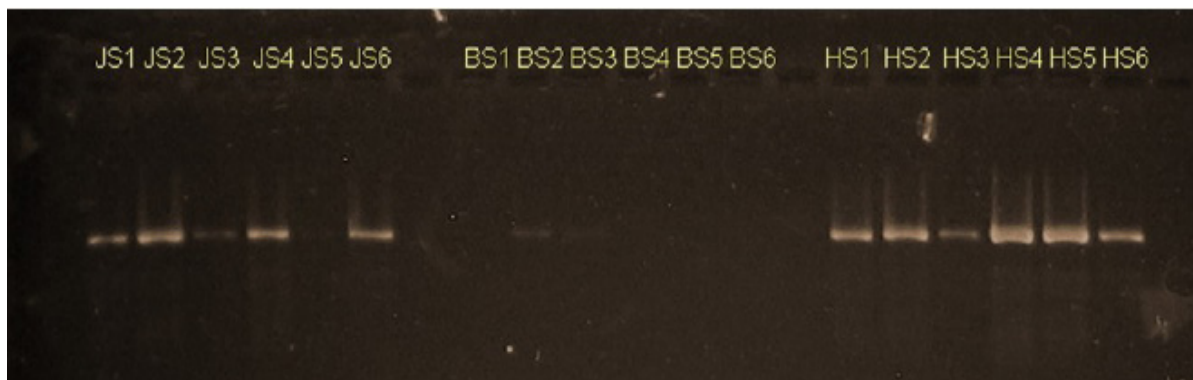
Menurut Irmawati (2003) dalam (Ria & Maizar 2019) menyatakan bahwa pita DNA yang tebal dan mengumpul (tidak menyebar) menunjukkan konsentrasi yang tinggi, dan DNA total yang diekstraksi dalam keadaan utuh, sedangkan tipisnya pita yang muncul dapat disebabkan kemurnian dan konsentrasi DNA yang rendah.

Primer SDP merupakan konversi fragmen DNA dari hasil teknik *random amplified polymorphic DNA* (RAPD) menggunakan primer PSDM dengan besaran produk 450 bp ke teknik *sequence-characterized amplified region* (SCARs) dan digunakan untuk mengidentifikasi jenis kelamin *C. papaya* L. *dioecious* dengan tiga jenis kelamin, yaitu jantan, betina, dan hermaphrodit (Urasaki *et al.* 2002; Sobir, Sijiprihati

& Pandia 2008; Ejaz *et al.* 2015). Selanjutnya hasil penelitian Urasaki *et al.* (2002) menunjukkan bahwa PSDM terletak di wilayah kromosom yang khusus untuk jantan dan hermaphrodit sehingga primer SDP yang dirancang dari hasil PCR primer PSDM menghasilkan fragmen yang berukuran 225 bp dengan tegas hanya pada individu jantan dan hermaphrodit. Hasil yang sama juga diperlihatkan dari hasil penelitian Ejaz *et al.* (2015) dengan sampel pepaya India dan (Kanchana *et al.* 2018) melakukan beberapa primer SCAR menggunakan pepaya komersil di Australia untuk membedakan kelamin pepaya, hasilnya primer dominan yang ditunjukkan sampel pohon jantan/ hermaphrodit tetapi tidak ada pada sampel tanaman betina. Hal ini memberikan informasi bahwa primer SCAR SDP hanya menghasilkan ampikon DNA pada tanaman jantan dan hermaphrodit, tidak pada tanaman betina. Namun demikian, pada penelitian ini tidak semua sampel asal tanaman hermaphrodit yang



Gambar 3. Hasil elektroforesis identifikasi kelamin pepaya menggunakan primer SCAR W11. 1H, 2H, 4H, 5H = tanaman hermaphrodit, 6J, 8J = tanaman jantan, 10B–15B = tanaman betina, dan M = DNA ladder 1kb (*Electrophoresis result of papaya genital identification using a SCAR W11. 1H, 2H, 4H, 5H = hermaphrodite, 6J, 8J = male, 10B–15B = female, and M = DNA ladder 1kb*)



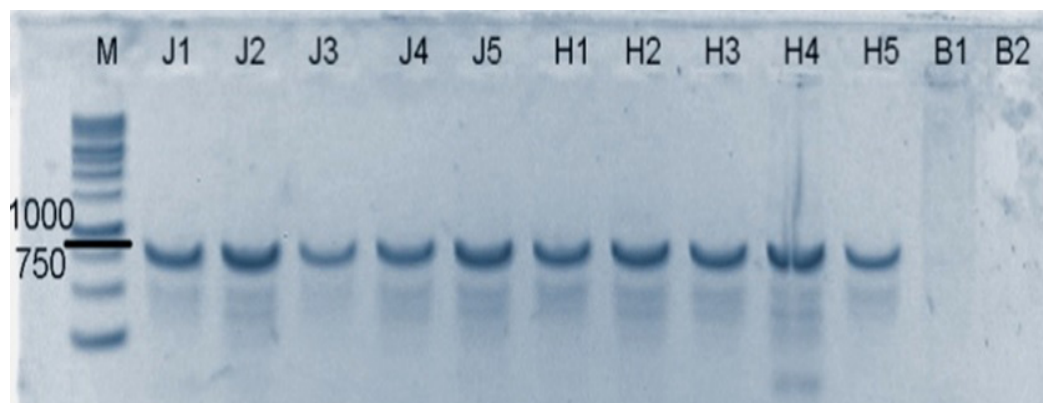
Gambar 4. Hasil elektroforesis identifikasi kelamin pepaya menggunakan primer SCAR T12. JS1–JS6 = tanaman jantan, HS1–HS6 = tanaman hermaphrodit, BS1–BS6 = tanaman betina, dan M = DNA ladder 1kb (*Electrophoresis result of papaya genital identification using a SCART 12. JS1–JS6 = male, HS1–HS6 = hermaphrodite, BS1–BS6 = female, and M = DNA ladder 1kb*)

menghasilkan amplicon DNA dengan menggunakan primer SCAR SDP.

Pola amplifikasi pita DNA tanaman jantan, hermaphrodit, dan betina menggunakan primer SCAR W11 terlihat pada Gambar 3. Pola pita DNA yang muncul adalah satu pita berukuran 800–900 bp yang tampak pada tanaman hermaphrodit dan jantan, tetapi pada tanaman betina tidak muncul pola pita DNA tersebut sehingga marka/primer SCAR W11 dapat digunakan untuk membedakan tanaman betina dengan tanaman jantan dan hermaphrodit, tetapi belum dapat membedakan antara tanaman jantan dengan tanaman hermaphrodit. Hasil penelitian pendahuluan Noflindawati, Sutanto & Anwar (2017) menguji marka SCAR W11 dengan sampel pepaya varietas Merah Delima yang memperlihatkan adanya produk PCR pada tanaman hermaphrodit dan jantan,

sedangkan tanaman betina tidak ada produk PCR yang dihasilkan. Oleh sebab itu primer SCAR W11 dapat dijadikan marka pembeda antara tanaman betina dengan tanaman jantan dan hermaphrodit.

Pola amplifikasi produk PCR dari primer SCAR T12 dengan suhu *annealing* 60°C terlihat pada Gambar 4. Pola amplifikasi pada sampel tanaman jantan (J1 sampai J6) dan hermaphrodit (H1, H2, H3, H4, dan H5) terlihat sama, yaitu satu pita DNA pada 800 bp, sedangkan untuk sampel tanaman betina tidak memperlihatkan pita DNA kecuali B2 sedikit memperlihatkan pita DNA yang tipis. Keberhasilan primer dalam mengamplifikasi dan menghasilkan pita polimorfik juga ditentukan oleh ada atau tidak adanya serta adanya distribusi situs pengenalan *annealing* primer pada *template* DNA (Hikmatyar et al. 2015). Hasil pengujian terhadap primer SCAR



Gambar 5. Hasil elektroforesis identifikasi kelamin pepaya menggunakan primer SCAR Napf2. H1–H5 = tanaman hermaprodit, J1–J5 = tanaman jantan, B1–B2 = tanaman betina, dan M = DNA ladder 1kb (*Electrophoresis result of papaya genital identification using a SCAR Napf2. H1–H5 = hermaphrodite, J1–J5 = male, B1–B2 = female, and M = DNA ladder 1kb*)

T12 terlihat pola pita DNA yang dihasilkan lebih mewakili dan memperlihatkan perbedaan sampel tanaman jantan, hermaprodit serta betina yang jelas, walau ada sampel B2 yang muncul pita DNA tipis hal ini dapat diabaikan karena dapat dioptimasi dan purifikasi lagi.

Menurut Sasmito *et al.* (2014) untuk mendapatkan suhu *annealing* diperlukan optimasi PCR melalui percobaan empiris dan bisa dilakukan dengan *gradient* PCR. Suhu *annealing* (T_a) merupakan suhu yang diperkirakan agar primer dapat berkaitan dengan cetakan DNA secara stabil. Suhu *annealing* yang tinggi akan menyulitkan terjadinya ikatan primer sehingga menghasilkan produk PCR yang kurang efisien. Sebaliknya, suhu *annealing* yang terlalu rendah menyebabkan terjadinya penempelan primer pada DNA di tempat yang tidak spesifik (Mutia & Putri 2019).

Hasil PCR dengan menggunakan primer Napf2 memperlihatkan pola amplifikasi DNA tanaman jantan dan hermaprodit terlihat pada kisaran 800 bp, sedangkan tanaman betina tidak teramplifikasi (Gambar 5). Hasil penelitian Leela & Chinnsamy (2018), yang memvalidasi penggunaan marka SCAR PKBT-5 dan SDP memiliki keberhasilan >90% mendeteksi dini kelamin pada tanaman jantan dan hermaprodit, sedangkan marka T12 dan W11 memiliki 90,5% dan 89,4% untuk tanaman jantan dan hermaprodit. Efektivitas pemanfaatan penanda molekuler tergantung pada tingkat keterkaitan penanda dengan karakter target dan harus dapat direproduksi pada populasi yang berbeda (Azrai 2005; Sasmito *et al.* 2014).

Berdasarkan hasil pengujian pasangan primer SCAR dalam penelitian ini diperoleh hasil bahwa primer W11 dan Napf2 merupakan primer yang lebih

baik dalam mengidentifikasi jenis kelamin tanaman pepaya dibanding dengan primer T12, PKBT-5, dan SDP.

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil pengujian terhadap kelima primer SCAR W11, T12, PKBT5, SDP, dan Napf2 menghasilkan pola amplifikasi pita DNA genom tanaman jantan, betina, dan hermaprodit yang berbeda, namun memiliki jumlah pita DNA yang sama.

DNA genom tanaman betina tidak teramplifikasi sehingga dapat dijadikan marka pembeda dari tanaman jantan atau hermaprodit. Primer SCAR yang diuji belum dapat membedakan antara DNA genom tanaman jantan dan DNA genom tanaman hermaprodit, maka perlu dilakukan identifikasi urutan basa dari kedua genom tersebut sehingga terlihat perbedaannya.

Primer SCAR Napf2, W11, dan T12 menghasilkan pola amplifikasi DNA genom jantan dan hermaprodit yang konsisten sehingga ketiga primer tersebut dipilih untuk identifikasi SNP dan desain primer SNAP.

Selanjutnya perlu dilakukan penelitian untuk membedakan antara genom jantan dan hermaprodit dengan melakukan sekuensing dan mendesain primer SNAP.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Balitbu Tropika yang telah mengizinkan penulis untuk melakukan penelitian di Laboratorium Molekuler dan

Uji Mutu, serta ucapan terima kasih kepada teknisi dan analis laboratorium yang telah membantu penulis dalam melaksanakan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aryal, R & Ming, R 2014, 'Sex determination in flowering plants: Papaya as a model system', *Plant Science*. Elsevier Ireland Ltd, 217-218, pp. 56–62. doi: 10.1016/j.plantsci.2013.10.018.
- Azrai, M 2005, 'Pemanfaatan markah molekuler dalam proses seleksi pemuliaan tanaman', *Jurnal AgroBiogen*, vol. 1, no. 1, pp. 26–37. doi: 10.21082/jbio.v1n1.2005, p26-37.
- Bhagyawant, SS 2016, 'RAPD-SCAR markers: An interface tool for authentication of traits', *Journal of Biosciences and Medicines*, vol. 04, no. 01, pp. 1–9. doi: 10.4236/jbm.2016.41001.
- Chaves-bedoya, G Chaves-bedoya, Giovanni Francisco, Universidad Santander & De Paula V 2007, 'A SCAR marker for the sex types determination in Colombian genotypes of *Carica papaya*', *Euphytica*, no. 153 (May), pp. 215–220. doi: 10.1007/s10681-006-9256-7.
- Chávez-Pesqueira, M & Núñez-farfán, J 2017, 'Domestication and genetics of papaya : A Review', no. 5 (December), pp. 1–9. doi: 10.3389/fevo.2017.00155.
- Ejaz Mahwish, Iqbal Muhammad, Naeemullah Muhammad, Ahmed Ifthikhar Shahzad, Armghan, Masood M Shahid & Ali Ghulam M 2015, 'Validation and use of DNA markers for sex determination in papaya (*Carica papaya*)', *Pak Journal Botany*, no. 47, no. 3, pp. 1051–1059.
- Foram, Vaghela, Pooja Kariya, Ram Vijay R & Dave Pragadesh N 2019, 'Sex determination in papaya', *Progress in Chemical and Biochemical Research*, vol. 2, no. 4, pp. 228–234. doi: 10.33945/SAMI/PCBR.2019.4.8.
- Hikmatyar Mohamad, Fazri Royani, Juwartina Ida & Dasumiati 2015, 'Isolasi dan amplifikasi DNA keladi tikus (*Thyponium flagelliform*) untuk identifikasi keragaman genetik', *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*, vol. 2, no. 2, pp. 42. doi: 10.29122/jbbi.v2i2.507.
- Kanchana-udomkan, C Nantawan, U Drew & R Ford, R 2018, 'Molecular marker-assisted papaya sex determination for improved grower efficiency', *Acta Horticulturae*, 1205, pp. 697–703, doi: 10.17660/ActaHortic.2018.1205.86.
- Korekar, Girish, Sharma Ram Kumar, Kumar Rahul Meenu, Bish Naveen C Srivastava Ravi B, Ahuja Paramvir Singh & Stobdan Tsering 2012, 'Identification and validation of sex-linked SCAR markers in dioecious *Hippophae rhamnoides* L. (Elaeagnaceae)', *Biotechnology Letters*, vol. 34, no. 5, pp. 973–978, doi: 10.1007/s10529-012-0852-4.
- Lee Chen Yu, Lin Hui Jun, Viswanath Kotapati Kasi, Lin Ching Peng, Chang Bill Chia, Han Chiu Pei Hsun Chiu, Chna Tai Wan Ren, Huang Chin Shih & Wen Chen Fure Chyi 2018, 'The development of functional mapping by three sex-related loci on the third whorl of different sex types of *Carica papaya* L', *PLOS ONE*, pp. 1–21.
- Leela Manoharan & Chinnasamy, K 2018, 'Validation of sex expression in papaya using molecular markers', *Research Journal of Agricultural Sciences*, vol. 9, no. 6, pp. 1219–1222.
- Lemos Eliana Gertrudes Macedo, Silva Cristina Lacerda Soares Petrarolha & Zaidan Humberto Actis 2002, 'Identification of sex in *Carica papaya* L. using RAPD markers', pp. 179–180.
- Liao, Z, Yu, Q & Ming, R 2017, 'Development of male-specific markers and identification of sex reversal mutants in papaya', *Euphytica*. Springer Netherlands, vol. 213, no. 5, pp. 1–12, doi: 10.1007/s10681-016-1806-z.
- Ming, R, Bendahmane, A & Renner, SS 2011, 'Sex chromosomes in land plants', *Annual Review of Plant Biology*, vol. 62, no. 1, pp. 485–514, doi: 10.1146/annurev-arplant-042110-103914.
- Ming, R & Moore, PH 2014, 'Genetics and genomics of papaya', *Genetics and Genomics of Papaya*, pp. 1–438, doi: 10.1007/978-1-4614-8087-7.
- Mohan, M 2014, *Validation of tests for sex determination in papaya (Carica papaya L.)*, College of Agriculture, Vellayani.
- Mutia Anika & Dwi Hilda Putri, W 2019, 'Primer design for identification of beta-carotene encoding genes in cassava', *Bio sains*, vol. 4, no. 1, pp. 39–47.
- Na Jong Kuk, Wang Jianping, Murray Jan E, Gschwend Andrea R, Zhang Wenli, Yu Qingyi, Perez Rafael Navajas & Ray Ming 2012, 'Construction of physical maps for the sex-specific regions of papaya sex chromosomes', *BMC Genomics*, vol. 13, no. 176, pp. 1–11.
- Niroshini, E, Everard, JMDT, Karunanayake, EH & Tirimanne, TLS 2008, 'Detection of sequence characterized amplified region (SCAR) markers linked to sex expression in *Carica papaya* L.', *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, vol. 36, no. 2, pp. 145–150.
- Noflindawati, Sutanto, A & Anwar, A 2017, 'Validasi primer untuk identifikasi sex tanaman pepaya (*Carica papaya* L.)', *Prosiding Seminar Nasional PERAGI*, pp. 1–6.
- Oliveira Eder Jorge De Luiz, Jorge, Dantas Loyola, Castellen Silva & Lima Diego Souza De 2007, 'Marcadores moleculares na predição do sexo em plantas de mamoeiro', *Pesq. Agropec. Bras.*, vol. 12, no. 1, pp. 1747–1754.
- Parasnis, AS, Gupta, VS, Tamhankar, SA & Ranjekar, PK 2000, 'A highly reliable sex diagnostic PCR assay for mass screening of papaya seedlings', *Molecular Breeding*, no. 6, pp. 337–344.
- Chaturvedi, Kanupriya, Bommisetty Padmakar, Pattanaik Arpita, Chinnaiyan Vasugi & Ramachandra Dinesh 2014, 'PCR detection assay for sex determination in papaya using SCAR marker', vol. 73, no. 2, pp. 291–298.
- Ria Oktavianti & Maizar, R 2019, 'Aplikasi PCR (polimerase chain reaction) menggunakan primer spesifik untuk mendeteksi cabai yang toleran terhadap kekeringan', *Juatika*, vol. 5, no. 2, pp. 8–15.
- Saran, PI, Solanki & Choudhary, R 2016, 'Biology, cultivation, production and uses', India: CRC Press and the CRC Press, Web site at <http://www.crcpress.com>.
- Sasmito Dinda Eling K, Kurniawan Rahadian & Muhimmah Izzati 2014 'Karakteristik primer pada polimerase chain reaction (PCR) untuk sekuensing DNA : Mini Review', *Prosiding Seminar Nasional*, pp. 93–102.
- Stefanova Petya, Taseva Marieta, Georgieva Tzveta, Gotcheva Velitchka & Angelov Angel 2013, 'A modified CTAB method for dna extraction from soybean and meat products', *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, vol. 27, no. 3, pp. 3803–3810, doi: 10.5504/BBEQ.2013.0026.

29. Sobir, Sujiprihati, S & Pandia, EC 2008, 'Development of SCAR marker for detection of sex expression in papaya (*Carica papaya* L.) from several genetic backgrounds', 240 (September), pp. 236–240.
30. Tomar Rukam Singh, Parakhia Manoj, Kheni Jasminkumar & Thakkar Jalpa Tomar 2015, 'Development of inter simple sequence repeat based SCAR marker for sex determination in *Carica papaya*', *Res. J. Biotech*, vol. 1, no. 12, (November), p. 8.
31. Urasaki Naoya, Tarora Kazuhiko, Shudo Ayano, Ueno Hiroki, Tamaki Moritoshi, Myagi Norimichi, Adaniya Shinichi & Matsumura Hideo 2012, 'Digital transcriptome analysis of putative sex determination genes in papaya (*Carica papaya*)', *Plos One*, vol 7, no. 7, doi: 10.1371/journal.pone.0040904.
32. Urasaki, N, Tokumoto, M, Tarora, K, Ban, Y, Kayano, T, Tanaka, H, Oku, H, Chinen, I & Terauch, R 2002, 'A male and hermaphrodite specific RAPD marker for papaya (*Carica papaya* L.)', *Theor Appl Gene*, 104, pp. 281–285.
33. Wang Jianping, Na Jong-kuk, Yu Qingyi, Gschwend Andrea R, Han Jennifer & Zeng Fanchang 2012, 'Sequencing papaya X and Y h chromosomes reveals molecular basis of incipient sex chromosome evolution', *PNAS*, vol. 109, no. 34, pp. 13711–13715, doi: 10.1073/pnas.1207833109/-/DCSupplemental. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1207833109.